

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 706 772

②① N° d'enregistrement national :

93 07559

⑤① Int Cl⁸ : A 61 K 37/02 , 9/14

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 22.06.93.

③③ Priorité :

④③ Date de la mise à disposition du public de la
demande : 30.12.94 Bulletin 94/52.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule.*

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : VACSYN (S.A.) société anonyme —
FR.

⑦② Inventeur(s) : Chedid Louis, Bahr Georges et
Lefrancier Pierre.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire : Gutman Ernest - Plassereaud Yves.

⑤④ Prévention et traitement du syndrome septique par un immunosuppresseur, notamment la ciclosporine.

⑤⑦ L'invention concerne l'utilisation d'un immunosuppres-
seur efficace chez l'homme pour la production d'un médi-
cament pour prévenir ou traiter les manifestations cliniques
du syndrome septique.

FR 2 706 772 - A1



PREVENTION ET TRAITEMENT DU SYNDROME SEPTIQUE PAR UN IMMUNOSUPPRESSEUR, NOTAMMENT LA CICLOSPORINE

Le choc septique ou "syndrome septique" est un concept qui a été décrit par R.C. Bone et coll. (Sepsis Syndrome and Clinical Entity. Crit. Care Med. 1989, 17:389-393) et sa description a pour but d'individualiser précocement et sur la seule observation clinique une étape de l'infection par les bactéries gram-négatives chez l'homme.

Il se manifeste par des signes cliniques généralisés de choc, intéressant les niveaux rénal, respiratoire, cardio-vasculaire, hématologique et neurologique. Son apparition est liée à la libération de toxines dans l'organisme essentiellement par des germes gram-négatifs. Le syndrome septique lui-même est causé par la réponse brusque et incontrôlée de l'organisme à l'agression toxique entraînant la sécrétion très rapide de quantités supraoptimales de médiateurs et particulièrement de cytokines.

Certains signes cliniques manifestent un risque de déclenchement du choc, par exemple une forte élévation de température ou une tachycardie.

Il serait extrêmement avantageux de pouvoir s'opposer au syndrome septique en mettant en oeuvre un traitement dès les premiers signaux de déclenchement, voire même de les prévenir chez des sujets à risques.

Une bactériémie est trouvée dans environ 1 syndrome septique sur 2 ou 3. Il est raisonnable d'estimer que l'incidence de chocs septiques à bactéries gram-négatives se situe entre 0.75 et 1% des malades hospitalisés en France soit annuellement entre 35 et 50.000 sujets. Aux Etats-Unis, l'estimation actuelle est de plus de 200.000 cas par an sur les 400.000 de bactériémies (Gram-négatif reconnu). Il faut

noter que 40 à 50% des cas de chocs septiques sont mortels, et que, même en cas de pronostic favorable, des séquelles importantes peuvent intervenir.

Malgré l'optimisation des traitements antibiotiques et symptomatiques, la mortalité due à des états infectieux graves dépasse encore 50% des cas dans la plupart des études. Aux Etats-Unis, il y aurait 80.000 décès par an attribués à un choc septique (Young L.S. "Gram-negative sepsis" in: Principles and Practice of Infectious Diseases, Third Edition Mandell J.L., Douglas R.G., Bennet J.E. (Eds), New York, Churchill, Livingston, 1990, 611-636).

De nombreuses approches thérapeutiques ont été testées, mais aucune n'a donné satisfaction. On peut citer :

- l'épuration du sang pour en éliminer les endotoxines, par hémoperfusion sur des colonnes contenant de la polymyxine B (Hanasawa K. et al., Surg. Gynecol. Obstet. 1989, 168:323-331),
- l'administration d'un inhibiteur du PAF (Platelet Activity Factor) (Adnot S. et al., Prostaglandins, 1986, 32:791-802),
- l'administration d'anticorps anti-TNF (études multicentriques en cours en Europe et en Amérique du Nord),
- l'administration d'un inhibiteur de la cyclooxygénase (études multicentriques en cours en Amérique du Nord),
- l'administration d'un antagonisme des récepteurs à l'interleukine 1 (études multicentriques en cours en Amérique du Nord),
- et enfin, pour ce qui a été particulièrement développé, les anticorps monoclonaux contre l'endotoxine ou le lipopolysaccharide (LPS) des bactéries à gram-négatif.

Aucune de ces approches n'a permis d'obtenir des résultats réellement probants en clinique, ce qui

s'explique peut-être par le fait que l'état de choc est la résultante d'une cascade d'événements complexes.

L'objet de la présente invention est l'utilisation d'un immunosuppresseur efficace chez l'homme dans la production d'un médicament pour prévenir ou traiter des manifestations cliniques du syndrome septique.

Plus particulièrement, l'invention est relative à l'utilisation de la ciclosporine A (CsA) dans la production d'un médicament pour prévenir ou traiter les manifestations cliniques du syndrome septique.

Les immunosuppresseurs, essentiellement la ciclosporine A, sont utilisés pour la prévention du rejet de greffe.

En dépit de son efficacité clinique, la recherche des mécanismes d'action de la ciclosporine est encore en cours. Il a été suggéré que l'un de ses mécanismes ferait intervenir une inhibition des fonctions des cellules T et notamment la production et la sécrétion de cytokines.

Il a été démontré que la CsA est un réactif susceptible d'inhiber la sécrétion des lymphokines par les lymphocytes T. Bunjes, D. et al. (Eur. J. of Immunol. 1981, 11:657) et T. Miethke et al. (J. Exp. Med. 1992, 175:91-98) ont effectivement montré que, dans un modèle de souris sensibilisées aux infections par des bactéries gram-positives, les souris prétraitées à la CsA survivent lorsqu'elles sont éprouvées par une concentration normalement létale avec l'antigène de l'entérotoxine B de staphylocoque (SEB). Cependant, les auteurs interprètent ce résultat comme une indication que le relargage de lymphokines par les cellules T sensibilisées au SEB pourraient avoir un rôle central dans le choc toxique (induit par les bactéries à gram-positif).

De nombreuses publications décrivent les relations entre l'administration de CsA et la production de

différentes interleukines, notamment l'IL2 (Chevach E.M., 1985, Annual Review of Immunology 3:397) le TNF (D.G. Remick et al., Bioch. and Biophys. Res. Comm. 1989, vol. 161, 2:551-555).

Enfin, D.T. N'Guyen et al. (The Journal of Immunology, 1990, 144:3822-3828) montrent que in vivo, la ciclosporine A inhibe la production de TNF.

Les auteurs ont conclu que la réduction du niveau de TNF, en association avec la capacité de la CsA à bloquer l'interleukine 2, peut expliquer l'efficacité de la CsA dans la prévention du rejet de greffe.

Cependant, aucune donnée de la littérature ne pouvait laisser prévoir que la ciclosporine pouvait être utilisée dans la prévention ou le traitement des manifestations cliniques du syndrome septique, notamment lorsque ce dernier est la conséquence d'une infection par des bactéries à gram-négatif. Selon des études récentes, le choc septique induit par les endotoxines des bactéries à gram-négatif serait médié par les macrophages, alors que le choc toxique induit par les exotoxines des bactéries à gram-positive serait médié par les cellules T.

Un autre agent immunosuppresseur nommé FK 506 a été décrit par N. Yoshimura et T. Oka (J. Immunol. Immunopharmacol. 1990, vol. 10, n° 1, p. 32). Ce composé est un antibiotique de la famille des macrolides isolé de la souche streptomyces tsukubakensis par la compagnie japonaise Fujisawa. Sa structure est très différente de celle de la ciclosporine A, mais ses propriétés immunosuppressives in vitro et in vivo en font un excellent candidat comme agent immunosuppresseur ; les auteurs mettent également en évidence un effet synergique pour la prévention du rejet de greffe du FK 506 avec d'autres immunosuppresseurs tels la CsA et la 15-déoxyspergualine.

C'est également un objet de la présente invention que d'utiliser le FK 506 seul ou en association avec la ciclosporine pour le traitement préventif et/ou curatif du syndrome septique chez l'homme.

En raison du caractère hydrophobe et/ou lipophile des peptides monocycliques de type ciclosporine ou de composés de type FK 506, cette insolubilité dans un solvant aqueux est particulièrement désavantageuse, notamment pour des produits destinés à être administrés par voie parentérale dans une solution physiologique aqueuse du type de celles habituellement utilisées pour les préparations injectables, notamment par voie intraveineuse ou intrapéritonéale. On peut y remédier, par leur association avec des agents solubilisateurs, notamment de ceux décrits dans la demande de brevet PCT/WO92/01475. Ces agents solubilisateurs de structure osidique dont l'une au moins des fonctions hydroxyle est substituée par un ou plusieurs groupes sulfate, et, le cas échéant, phosphate. Ces agents solubilisateurs sont particulièrement efficaces pour solubiliser les peptides cycliques de la famille de la ciclosporine, notamment la ciclosporine A, ainsi que les pseudopeptides cycliques comme la valinomycine ou les macrolides polyéniques comme le composé FK 506.

De la même façon, la demande de brevet français 79.04989 et la demande de brevet européen 88.16886 décrivent des compositions associées à des supports permettant la solubilisation des composés cycliques de type ciclosporine ou FK 506, notamment pour des formulations injectables ou éventuellement des formulations topiques.

La présente invention est donc également relative à l'utilisation d'un immunosuppresseur, notamment la ciclosporine ou le dérivé FK 506, associé à un dérivé hydrosoluble en proportions suffisantes pour promouvoir la solubilisation ou la dispersion de

l'immunosuppresseur hydrophobe et administrable par voie intraveineuse ou intrapéritonéale ou orale.

Dans les conditions de l'invention, en associant l'immunosuppresseur à des agents de solubilisation, la ciclosporine A est administrée de façon préférée à des doses comprises entre 5 et 15 mg/kg et par jour lorsque l'administration est effectuée par voie intraveineuse. Elle est de 15 à 50 mg/kg et par jour lorsque l'administration est effectuée par voie orale, dans les conditions de formulation classique.

De façon optimale, la concentration utile de ciclosporine A dans le sérum est de 200 à 1000 ng/ml et est maintenue à cette concentration jusqu'à la disparition des risques de chocs septiques.

Dans les mêmes conditions, l'administration de FK 506 est effectuée préférentiellement à des doses comprises entre 0.5 et 5 mg/kg et par jour et la concentration utile dans le sérum étant maintenue entre 0.3 et 10 ng/ml et ce, jusqu'à la disparition des risques de syndromes septiques.

Il va de soi que le clinicien pourra adapter les doses en fonction de la biodisponibilité de l'immunosuppresseur selon la formulation choisie, ainsi que de l'état clinique du patient.

L'invention est également relative à l'utilisation d'une association entre la ciclosporine A et le FK 506 pour prévenir ou traiter les manifestations cliniques du syndrome septique.

Font également partie de l'invention toutes les utilisations de l'immunosuppresseur chez l'homme dans la prévention ou le traitement des manifestations cliniques du syndrome septique, en association avec d'autres médicaments tels que ceux cités plus haut, notamment les anticorps monoclonaux contre les bactéries gram-négatif, les anticorps monoclonaux anti-TNF ou même des antibiotiques.

De la même façon, fait partie de l'Invention, l'association dans un traitement d'un immunosuppresseur avec d'autres molécules susceptibles de moduler le système immunitaire utilisables en cas d'épisodes infectieux.

il s'agit notamment :

- de l'antagoniste du récepteur de l'Interleukine 1 (IL 1 RA), lui-même induit par une administration simultanée de l'interféron et de Muramyl-peptide,
- de l'IFN α seul ou associé à un Muramyl-peptide, ou tout traitement susceptible d'induire la production d'IL 1 RA et/ou de récepteur soluble du TNF,
- de cytokines connues pour leur activité anti-inflammatoires, notamment l'IL 13 et ou le TGF β .

Dans tout ce qui précède, l'expression "association" n'implique pas que l'immunosuppresseur et les autres drogues choisis soient nécessairement administrés en mélange ou de façon simultanée. Elle s'étend également à toute utilisation ou présentation impliquant leurs administrations à des intervalles de temps non nuls, étant néanmoins entendu que les intervalles doivent être suffisamment courts pour autoriser les interactions mutuelles des deux constituants de l'association dans les conditions sus-indiquées.

Enfin, les compositions pharmaceutiques pour la prévention ou le traitement des manifestations cliniques du choc septique contenant un immunosuppresseur dans une formulation adaptée à une administration injectable à des doses permettant l'obtention d'une concentration utile pour la

ciclosporine A de 200 à 1000 ng/ml dans le sérum du patient et ou pour le FK 506 de 0,3 à 10 ng/ml de sérum font également partie de l'invention.

De la même façon, les compositions pharmaceutiques telles que décrites ci-dessus et contenant en outre, soit :

- un anticorps monoclonal anti-TNF ou anti-LPS, comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps en prévention ou traitement de choc septique.

- une cytokine ou un agent de modulation du système immunitaire comme l'IL 1 RA, l'IFN α avec un Muramyl-peptide, ou tout produit stimulant la production d'IL RA et/ou de récepteur soluble du TNF, comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps en prévention ou traitement de choc septique.

L'utilisation de ces immunosuppresseurs pour la prévention du choc septique est intéressante à plusieurs égards, notamment compte tenu :

- de leur toxicité relativement faible eu égard à la brièveté des durées des traitements relevant des domaines d'applications des médicaments de l'invention (notamment si on les compare aux durées de traitements immunosuppresseurs chez des personnes subissant des greffes d'organes) ; d'où également la possibilité de les utiliser en doses plus concentrées dans le cas du traitement ou de la prévention des chocs septiques ;
- de leur aptitude à inhiber des chocs septiques dus indifféremment à des bactéries à gram-négatif ou à gram-positif (cas des chocs toxiques).

Les médicaments anti-choc septique selon cette invention doivent être d'un intérêt tout particulier,

pour la prévention de ces chocs, notamment chez de grand(e)s opéré(e)s, notamment dans les sphères abdominales ou gynécologiques.

Le caractère particulièrement significatif de l'effet protecteur de la ciclosporine A à l'égard du choc septique susceptible d'être induit chez l'hôte par des bactéries à gram-négatif est particulièrement mis en relief dans les essais biologiques sévères dont la description suit, notamment sur des animaux sensibilisés aux chocs endotoxiniques et notamment à l'effet toxique du lipopolysaccharide.

Ils ne sont en aucun cas limitatifs, ni de la source potentielle du choc septique, ni du véhicule utilisé.

Exemple 1 :

L'expérience est réalisée chez des souris Swiss que l'on sensibilise à l'effet toxique de l'endotoxine (lipopolysaccharide de *Salmonella Enteritidis*) par de la galactosamine suivant une méthode classique.

Tous les animaux reçoivent au temps 0, vingt milligrammes de galactosamine par la voie péritonéale (i.p.). Ils reçoivent simultanément par la voie veineuse (i.v.) 10 ng d'endotoxine. Les lots expérimentaux ont été traités 2 heures avant l'injection déclenchante par la ciclosporine donnée par voie péritonéale. Les doses de ciclosporine sont 0,2 mg, 0,5 mg ou 1 mg. La ciclosporine est solubilisée dans un mélange de Tween 80 et d'alcool.

Le procédé de dissolution est le suivant : 10 mg de ciclosporine sont utilisés dans 250 μ l d'éthanol contenant 50 μ g de Tween 80. On ajoute ensuite 4,7 ml d'eau physiologique et on mélange en utilisant un agitateur de type Vortex.

Les animaux témoins reçoivent le véhicule d'administration sans ciclosporine. Les résultats sont

donnés dans le tableau suivant, pour chaque groupe le nombre de survivants sur le nombre total d'animaux est indiqué ainsi que le pourcentage de survie.

Traitement(*) voie i.p. H-2	Nombre de survivants	Total	% de survie
Témoin véhicule	6	40	15
Ciclosporine 0,5 mg	26	40	65
Ciclosporine 1 mg	35	40	87

(*) Au temps 0, tous les animaux reçoivent une injection de galactosamine (20 g) et LPS (10 ng) par la voie veineuse.

On voit sur ce tableau que le traitement par la ciclosporine A en solution alcool/Tween protège les souris sensibilisées par la galactosamine contre choc septique produit par l'administration de LPS.

Exemple 2 :

Une autre façon de sensibiliser des animaux au choc endotoxique est de leur administrer des mycobactéries en particulier du BCG (Bacille de Calmette-Guérin).

Dans cette expérience, les souris Swiss ont reçu par la voie veineuse 2 mg de BCG tué (Institut Pasteur). Vingt-quatre heures et deux heures avant l'administration d'une dose d'épreuve de LPS (0,3 µg par la voie veineuse) elles sont traitées par la ciclosporine injectée i.p. A -24 h la dose est 1 mg, à -2 h elle est de 0,5 mg). Les animaux témoins recevant au même temps soit du véhicule d'administration seul, soit de l'eau physiologique.

Traitement(*) h -24 et h -2	Nombre de survivants	Total	% de survie
Témoin eau physiologique	0	15	0
Témoin véhicule	1	15	0,7
Ciclosporine 1 mg puis 0,5 mg	9	15	60

(*) Les souris ont reçu 2 mg de BCG i.v. deux semaines avant le traitement et l'épreuve toxique. L'administration de la ciclosporine a permis de s'opposer aux effets de la présence d'endotoxine dans la circulation chez des animaux sensibilisés par l'administration de BCG.

- Exemple 3 :

Dans cette expérience, les animaux ont été rendus susceptibles à l'endotoxine par surrenalectomie. L'ablation des surrénales conduit à l'absence de sécrétion de corticoïdes qui sont des antagonistes de l'action toxique des endotoxines. Les souris ainsi opérées deviennent donc sensibles à des doses 5 000 à 10 000 fois plus faibles de LPS que les souris normales. La ciclosporine a été utilisée dans les mêmes conditions que celles décrites dans l'exemple 1 chez des souris surrenalectomisées et traitées par l'endotoxine, mais le deuxième groupe expérimental a reçu deux injections respectivement 16 heures et 2 heures avant le traitement par l'endotoxine.

Les résultats du tableau donnent le nombre d'animaux survivants dans chaque groupe.

Traitement(*) voie i.p. H-2	Nombre de survivants	Total
Témoin véhicule	0	10
Ciclosporine 0,5 mg h -2	5	9
Ciclosporine 0,5 mg h -16 et h -2	4	5

(*) Au temps 0, les animaux reçoivent par voie i.v. de l'endotoxine (50 ng).

On voit par cet autre exemple que le traitement ciclosporine protège contre la mort par choc septique d'animaux rendus plus susceptibles à l'endotoxine par suppression de l'activité de leurs glandes surrénales.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'un immunosuppresseur efficace chez l'homme pour la production d'un médicament pour prévenir ou traiter les manifestations cliniques du syndrome septique.

2. Utilisation d'un immunosuppresseur, selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'il s'agit de la ciclosporine A.

3. Utilisation d'un immunosuppresseur, selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'il s'agit d'un macrolide, notamment la dénommée FK 506.

4. Utilisation d'un immunosuppresseur selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée par l'association dans le médicament de l'immunosuppresseur avec un dérivé osidique hydrosoluble en proportions suffisantes pour promouvoir la solubilisation ou la dispersion d'une molécule hydrophobe.

5. Utilisation d'un immunosuppresseur selon les revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le médicament est administrable par voie intraveineuse ou intrapéritonéale ou par voie orale.

6. Utilisation de la ciclosporine A selon l'une quelconque des revendications 2, 4 et 5, caractérisée en ce que le médicament est préconstitué de façon à permettre :

- l'administration de doses se situant préférentiellement entre 5 et 15 mg/kg et par jour par voie intraveineuse ou intrapéritonéale, et de 15 à 50 mg/kg et par jour par voie orale, ou
- l'obtention de concentration utile dans le sérum est de 200 à 1000 ng/ml,
- les deux à la fois.

7. Utilisation de FK 506 selon l'une des revendications 3, 4 et 5, caractérisée en ce que le médicament est préconstitué de façon à permettre

l'administration de doses se situant préférentiellement entre 0,5 et 5 mg/kg et par jour et la concentration utile dans le sérum pouvant varier de 0,3 à 10 ng/ml.

8. Composition pharmaceutique pour la prévention ou la traitement de manifestations cliniques du syndrome septique contenant de la ciclosporine A caractérisée en ce que sa formulation est adaptée à une administration injectable à des doses permettant l'obtention d'une concentration utile de ciclosporine A de 200 à 1000 ng/ml dans le sérum du patient auquel la composition pharmaceutique est destinée, en association avec un véhicule pharmaceutique acceptable.

9. Composition pharmaceutique pour la prévention ou la traitement de manifestations cliniques du syndrome septique contenant du FK 506 caractérisée en ce que sa formulation est adaptée à une administration injectable à des doses permettant l'obtention d'une concentration utile de FK 506 de 0,3 à 10 ng/ml de sérum, en association avec un véhicule pharmaceutique acceptable.

10. Composition pharmaceutique contenant la ciclosporine A selon les revendications 6 ou 8 et le FK 506 selon les revendications 8 ou 9 comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps en prévention ou traitement du syndrome septique.

11. Composition pharmaceutique contenant un immunosuppresseur selon l'une quelconque des revendications 8 à 10 et un anticorps monoclonal anti-TNF ou anti-LPS, comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps en prévention ou traitement du choc septique.

12. Composition pharmaceutique contenant un immunosuppresseur selon la revendication 10 ou la revendication 11, et un agent de modulation du système immunitaire comme l'IL 1 RA, l'IFN α associé à un

ou tout produit stimulant la production d'IL RA et/ou de récepteur soluble du TNF, comme produit de combinaison pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps en prévention ou traitement de choc septique en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X,D	WO-A-92 01475 (VACSYN FRANCE S.A.) * page 2, ligne 10 - page 3, ligne 3 * * page 5, ligne 4 - ligne 12 * ---	1,2,4,5
X,D	JOURNAL OF IMMUNOLOGY vol. 144, no. 10 , 15 Mai 1990 , BALTIMORE US pages 3822 - 3828 DUNG T. NGUYEN ET AL. 'CYCLOSPORIN A MODULATION OF TUMOR NECROSIS FACTOR GENE EXPRESSION AND EFFECTS IN VITRO AND IN VIVO' * le document en entier * ---	1,2
X,D	BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS. vol. 161, no. 2 , 15 Juin 1989 , DULUTH, MINNESOTA US pages 551 - 555 DANIEL G. REMICK ET AL. 'CYCLOSPORINE A INHIBITS TNF PRODUCTION WITHOUT DECREASING TNF MRNA LEVELS' * le document en entier * ---	1,2
A	WO-A-92 17193 (INSTITUT PASTEUR ET AL.) -----	
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.C1.5)
		A61K C07K
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
30 Mars 1994		Remp, G
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		

THIS PAGE BLANK (USPTO)